

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1931-1932. — N° 125

LES

OXYDASES ET LES PEROXYDASES

A L'ÉTAT NORMAL
ET DANS LE PALUDISME

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

présentée et soutenue publiquement le Vendredi 18 Mars 1932

PAR

Paul-Louis-Lucien LAMOUREUX

MÉDECIN COLONIAL DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

Né à EECKEREN (Province d'Anvers, Belgique), le 23 mai 1906.

Examineurs de la Thèse	{	MM. BONNIN, professeur.....	Président.
		DUPÉRIÉ, professeur.....	Juges.
		AUBERTIN, agrégé.....	
		DELMAS-MARSALET, agrégé.	

BORDEAUX

IMPRIMERIE DE L'ACADÉMIE ET DES FACULTÉS

Y. CADORET

3, PLACE SAINT-CHRISTOLY, 3

1932

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX
FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1931-1932. — N° 125

LES
OXYDASES ET LES PEROXYDASES
A L'ÉTAT NORMAL
ET DANS LE PALUDISME

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

présentée et soutenue publiquement le Vendredi 18 Mars 1932

PAR

Paul-Louis-Lucien LAMOUREUX

MÉDECIN COLONIAL DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

Né à EECKEREN (Province d'Anvers, Belgique), le 23 mai 1906.

Examineurs de la Thèse	{	MM. BONNIN, professeur.....	Président.
		DUPÉRIÉ, professeur.....	Juges.
		AUBERTIN, agrégé.....	
		DELMAS-MARSALET, agrégé.	

BORDEAUX
IMPRIMERIE DE L'ACADÉMIE ET DES FACULTÉS
Y. CADORET
3, PLACE SAINT-CHRISTOLY, 3

1932

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

M. SIGALAS..... Doyen.



PROFESSEURS HONORAIRES :

POUSSON, MOURE, PRINCETEAU, W. DUBREUILH, RIVIÈRE,
BARTHE, DENIGES, AUCHÉ.

PROFESSEURS

	MM.		MM.
Clinique médicale.....	MAURIAC.	Zoologie et parasitologie.....	MANDOUL.
id.....	CASSAET.	Médecine expérimentale.....	DUPÉRIÉ.
Clinique chirurgicale.....	CHAVANNAZ.	Clinique ophtalmologique.....	TEULIÈRES.
id.....	BÉGOUIN.	Clinique chirurg. infantile et orthopédie.....	ROCHER.
Pathologie et thérapeutiques générales.....	CARLES.	Clinique gynécologique.....	GUYOT.
Clinique d'accouchements.....	ANDÉRODIAS.	Clinique méd. des maladies des enfants.....	CRUCHET.
Anatomie pathol. et microscopie clinique.....	SABRAZÈS.	Chimie biologique et médicale.....	DELAUNAY.
Anatomie.....	VILLEMEN.	Physique médicale et pharmaceutique.....	SIGALAS.
Anatomie générale et histologie.....	G. DUBREUILH.	Médec. coloniale et clin. des mal. exotiques.....	BONNIN.
Physiologie.....	PACHON.	Clinique des malad. cutanées et syphilitiques.....	PETGES.
Hygiène.....	LEURET.	Clinique des maladies des voies urinaires.....	DUVERGEY.
Médecine légale et déontologie.....	LANDE.	Clinique des malad. nerveuses et mentales.....	ABADIE.
Electroradiologie et clin. d'électricité médic.....	RÉCHOU.	Clinique d'oto-rhino-laryngologie.....	PORTMANN.
Chimie.....	CHELLE.	Toxicologie et hygiène appliquée.....	LABAT.
Botanique et matière médicale.....	BEILLE.	Hydrologie thérapeutique et climatologie.....	SELLIER.
Pharmacie.....	DUPOUY.	Clinique dentaire.....	CAVALIÉ.

MM MICHELEAU (Médecine générale). MURATET (Anatomie pathologique). GOLSE (Pharmacie).
LACOSTE (Histologie).

AGRÉGÉS EN EXERCICE :

	MM.		MM.
Anatomie.....	DUBECQ.	Chirurgie générale.....	PAPIN.
id.....	DUFOUR.	id.....	JEANNENEY.
Physiologie.....	FABRE.	id.....	CHARRIER.
Parasitologie et sciences naturelles.....	R. SIGALAS.	id.....	LOUBAT.
Médecine générale.....	CREYX.	Obstétrique.....	PERY.
id.....	AUBERTIN.	id.....	RIVIÈRE.
id.....	DAMADE.	Ophtalmologie.....	BEAUVIEUX.
id.....	PIÉCHAUD.	Dermatologie et syphiligraphie.....	JOULIA.
id.....	DELMAS-MARSALET.	Chimie générale pharmaceut. et toxicologie.....	VITTE.
Maladies mentales.....	PERRENS.		

COURS COMPLÉMENTAIRES :

	MM.		MM.
Médecine opératoire.....	PAPIN.	Puériculture.....	FAUGÈRE.
Physiologie.....	FABRE.	Démonstrations et préparations pharmac.....	GOLSE.
Accouchements.....	RIVIÈRE.	Zoologie et parasitologie.....	R. SIGALAS.
Ophtalmologie.....	CABANNES.		

Orthopédie chez l'adulte, pour les accidentés du travail, les mutilés de guerre et les infirmes. MM. N.
Cours complémentaire annexe. — Prothèse et rééducation professionnelle..... GOURDON.
id..... Clinique dentaire..... DELGUEL.

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation ni improbation.

A MA GRAND'MERE

A MON PERE

Je souhaite apporter dans ma carrière
la même conscience professionnelle qu'il
a montrée dans la sienne.

A MA MERE

Ceci n'est qu'un humble hommage pour
la grande reconnaissance que je lui dois.

A MA SOEUR

AUX MIENS ET A MES AMIS

A MES ANCIENS CAMARADES
DE L'ECOLE DU SERVICE DE SANTE MILITAIRE
DE LYON

(PROMOTION 1929.)

A LA MEMOIRE

DE MONSIEUR LE PROFESSEUR R. PICQUÉ

*Médecin principal de 1^{re} classe,
Professeur d'anatomie à la Faculté de Médecine de Bordeaux,
Officier de la Légion d'honneur,
Croix de Guerre.*

Dont j'ai souvent admiré le dévouement
auprès des malades, qu'il me serve
d'exemple.

A MONSIEUR LE DOCTEUR BOSREDON

Qui voulut bien me permettre l'accès
de la Clinique maritime et coloniale.

A MES MAITRES DE LA FACULTE DE MEDECINE

ET DES HOPITAUX DE BORDEAUX

A MES JUGES

A MON PRESIDENT DE THESE

MONSIEUR LE PROFESSEUR H. BONNIN

*Professeur de médecine coloniale et de clinique
des maladies exotiques à la Faculté de Médecine de Bordeaux,
Médecin des Hôpitaux,
Officier de l'Instruction publique.*

En remerciement très sincère du bien-
veillant accueil qu'il nous a réservé dans
son laboratoire, ainsi que pour les
innombrables conseils qu'il ne nous a
pas ménagés.

LES
OXYDASES ET LES PEROXYDASES
A L'ÉTAT NORMAL
ET DANS LE PALUDISME

INTRODUCTION

C'est en recherchant les peroxydases et les oxydases dans les monocytes que nous avons été amené à étudier les variations des ferments leucocytaires chez le paludéen.

Tous les auteurs n'admettent pas l'existence des peroxydases et des oxydases dans les monocytes. Quelques-uns en signalent, en petite quantité, dans quelques monocytes à noyaux lobés; nous avons voulu reprendre leurs recherches.

Comme normalement l'homme ne possède que 5 à 8 p. 100 de monocytes, nous nous sommes adressé à des paludéens chez qui la monocytose s'élève souvent au décours des périodes fébriles à 15 et 25 p. 100 et exceptionnellement peut atteindre jusqu'à 30 et même 40 p. 100 des leucocytes. Nous avons été frappé des variations que présentaient les peroxydases et les oxydases au cours d'un accès palustre, et ce sont les recherches faites en ce sens que nous exposons dans ce travail.

HISTORIQUE

C'est Metchnikoff qui, le premier, parla des ferments leucocytaires en attribuant à l'action de deux diastases, les macro et les microcytases, la digestion intracellulaire.

Abelous, en 1894, montre un ferment oxydant dans le sang. Pour Portier, en 1897, ce ferment paraît provenir des leucocytes. « Si, en effet, on centrifuge du sang auquel on a ajouté de l'oxalate de potasse pour empêcher la coagulation, c'est avec les parties superficielles du culot, c'est-à-dire avec la couche de leucocytes, qu'on obtient les réactions des oxydases (coloration bleue avec la teinture de gaïac due à l'oxydation de l'acide gaïaconique). Mais il n'est pas certain que ces oxydases préexistent dans le sang et les tissus des animaux. D'après Portier, elles proviendraient de la destruction des leucocytes. On sait depuis longtemps que le pus donne les réactions de la teinture de gaïac

» La localisation du ferment oxydant dans les leucocytes peut être mise en évidence au microscope par la synthèse de l'indophénol.

» On avait d'abord cru voir dans les oxydases sanguines et leucocytaires des ferments capables de produire les oxydations qui se passent dans l'intimité des tissus; mais jusqu'ici ces ferments se sont montrés incapables de cette action. Portier leur attribue un rôle dans la défense de l'organisme contre les microbes; ils seraient capables d'activer la phagocytose; mais cette hypothèse n'est pas démontrée.

» Les oxydases paraissent appartenir seulement aux leucocytes granuleux. Les lymphocytes, leucoblastes et myéloblastes ne donnent pas ces réactions,

» On peut aussi mettre en évidence, dans certains leucocytes, des oxydases indirectes (peroxydases) qui empruntent l'oxygène non plus au milieu ambiant, mais à des corps oxydés.

» On recherche cette réaction avec la benzidine.

» Comme la réaction des oxydases directes, la réaction des peroxydases paraît appartenir seulement aux leucocytes et aux myélocytes granuleux. Elle est moins sensible que la réaction de l'indophénol et a plus de valeur. Les lymphocytes, myéloblastes et leucoblastes ne la donnent pas. Malgré des résultats contraires, qui sont probablement dus au mélange d'autres formes leucocytaires, la réaction est en général négative avec le sang des leucémies aiguës à cellules indifférentes (myéloblastes et leucoblastes). Elle est négative dans la lymphocytémie et positive dans la myélocytémie.

» On a attribué encore aux leucocytes la sécrétion d'autres ferments : ferment glycolytique, plasmase, ferment autolytique faisant apparaître les granulations lipoides, ferment capable de dissocier la lécithine (lipoïdase ou lécithinase). Ce dernier ferment est recherché par hydrolyse de la lécithine et libération de la choline qu'on caractérise, après l'action de l'iode, par la formation des cristaux de Florence. Ce ferment, comme la protéase et les peroxydases, appartient aux leucocytes et myélocytes granuleux et n'appartient ni aux lymphocytes, leucoblastes et myéloblastes » (d'après Jolly).

Puis Achalme, en 1899, publia un travail sur les ferments des leucocytes au point de vue de leur fonction chimique. Il distingue dans le pus des séreuses ou dans le pus des ganglions :

- a) Un ferment protéolytique, dissolvant la fibrine et le blanc d'œuf : il serait égal à la trypsine;
- b) Une diastase, qui liquéfie la gélatine, rare dans le pus des séreuses, très abondante dans les pus sous-cutanés;
- c) Une caséase, qui ressemble au premier.

Ces ferments, ajoute l'auteur, ne proviennent pas d'une action microbienne, car on les retrouve dans le pus des abcès de fixation.

Actuellement, après les nombreuses recherches faites surtout par N. Fiessenger sur les ferments leucocytaires, on peut diviser les ferments en groupes très différents :

1° *Ferments d'oxydation et de désoxydation.*

Les *oxydases directes* qui agissent directement avec l'oxygène de l'air;

Les *oxydases indirectes* ou *peroxydases* qui empruntent l'oxygène dont elles ont besoin à un peroxyde;

Les *catalases* qui décomposent l'eau oxygénée;

Les *réductases* qui désoxydent un tissu par hydrogénisation.

2° *Ferments d'hydratation et de déshydratation.*

Les uns agissent sur les protéinès : ce sont les *protéases*, ou sur les peptones : ce sont les *peptases*, ou sur l'acide nucléique des nucléo-protéides : ce sont les *nucléases*;

Les autres agissent sur les hydrates de carbone : ce sont les *amylases*, les *maltases*, le *ferment glycolytique*, dont les noms rappellent les substances qu'ils attaquent.

3° *Ferments de coagulation.*

Ce sont : la *chymosine* qui coagule le lait, la *thrombine* qui coagule la fibrine.

Il y a quelques années, Popper n'a pas trouvé de modifications des peroxydases et des oxydases dans le sang de certaines maladies fébriles qu'il a étudié, sans dire lesquelles.

DEFINITION

Voici la définition que donne des oxydases et des peroxydases N. Fiessenger, dans son livre : *Les ferments des leucocytes*.

« Les oxydases sont des ferments qui, à la température ordinaire et dans les conditions physiologiques, portent rapidement l'oxygène sur des corps que cet oxygène, sans les oxydases, n'attaquerait que bien plus lentement. » Ces substances rentrent dans la classe des diastases et Bourquelot a montré qu'elles possèdent les caractères communs aux diastases :

1° Possibilité de déterminer, sous un poids infiniment petit, des transformations infiniment grandes;

2° Activité croissante avec la température jusqu'à une limite optima de 45 degrés, faiblissant au delà de 60 degrés pour se détruire complètement à 100 degrés;

3° Précipitation par l'alcool fort;

4° Solubilité dans l'eau;

5° Fixation sur les précipités;

6° Absence du pouvoir de dialyser.

Chez les êtres vivants, les ferments oxydants doivent être distingués de deux catégories de corps doués de propriétés oxydantes : l'ozone et les ozonides. Ces corps oxydants n'agissent pas comme les ferments; ils n'absorbent pas de l'oxygène durant leur action, puisque celle-ci n'est due qu'à la présence de l'ozone. L'oxygène qu'ils renferment une fois employée, ces corps deviennent inactifs.

Les ferments oxydants se divisent en deux groupes principaux :

Certains ferments sont oxydants à l'aide de l'oxygène de l'air ou du milieu ambiant, auquel ils communiquent une certaine activité chimique. Ce sont les *ferments oxydants directs*. Ils fixent une quantité indéfinie d'oxygène et leur action est toujours accompagnée d'une absorption plus ou moins considérable d'oxygène;

Les autres ferments sont des substances qui, mises en présence de l'eau oxygénée, la décomposent et produisent de l'oxygène naissant, qui possède toutes les propriétés de celui qui a été modifié par le ferment oxydant. Ces ferments sont des *oxydases indirectes*. Ils ont reçu des appellations différentes : *Sauerstoffüberträger*, *peroxydase*, *leptomine* et *anaéroxydase*.

Les meilleures recherches pour mettre en évidence les oxydases et les peroxydases dans les tissus sont les réactions microchimiques sur les leucocytes et non les recherches chimiques. Car les premières donnent des résultats nets et précis très à l'abri des causes d'erreur fréquentes dans la pratique macroscopique, du fait de l'action peroxydante des hématies.

TECHNIQUES DE COLORATIONS

En particulier des contre-colorations nucléaires pour la distinction des leucocytes après avoir révélé leurs ferments (personnel).

Nous avons utilisé, pour déceler peroxydases et oxydases, les réactions habituelles plus ou moins modifiées. Mais ces procédés ne montrent que les ferments, qui seuls se détachent sur la préparation.

Pour distinguer les divers leucocytes, nous nous sommes efforcé de trouver des contre-colorations nucléaires ou nucléocytoplasmiques qui ne nuisent pas aux colorations fermentaires et qui soient tolérées par elles.

I. — *Peroxydases.*

Pour déceler les peroxydases, nous employons la solution de benzine préconisée par Fiessenger et Roudowska, légèrement modifiée par Sabrazès, comme suit :

A. — Sur des frottis frais et non fixés, ayant été faits depuis quinze jours au plus, nous faisons agir pendant vingt minutes la solution suivante, en évitant la dessiccation :

Benzidine pure.....	sept centig.
Alcool à 75°.....	100 cc.

(N. Fiessenger et les autres auteurs se servent de 3 centigrammes; en portant le taux de la solution à 7 centigrammes, nous avons obtenu de meilleures colorations.)

Vingt-quatre heures avant l'emploi, nous avons ajouté à

cette solution cinq gouttes, au compte-gouttes normal, d'eau oxygénée fraîche du Codex, à 12 volumes.

B. — Nous faisons ensuite tremper verticalement la lame ainsi colorée pendant cinq à six minutes dans de l'alcool à 75 degrés, de façon à dissoudre et entraîner toutes les impuretés qui auraient pu se déposer.

Identification des leucocytes.

C. — Pour étudier les granulations fermentaires des divers leucocytes, des monocytes en particulier, il fallait révéler les aspects différentiels des uns et des autres, afin de les distinguer à coup sûr, la benzidine ne montrant que les grains des ferments, en particulier obtenir une coloration nucléaire.

Nous avons fait de très nombreux essais. Voici les méthodes qui nous ont donné de bons résultats, toutes ne respectant pas les réactions peroxydasiques révélées antérieurement :

a) La première est l'*hématoxyline ferrique* (1^{er} temps du Van Gieson), mélange extemporané, en parties égales, des solutions A et B suivantes :

Solution A :

Perchlorure de fer officinal.....	4 g.
Acide chlorhydrique	1 g.
Eau distillée	95 cc.

Solution B :

Hématoxyline	1 g.
Alcool à 95°.....	100 cc.

(Cette dernière solution doit être vieillie à la lumière pendant un mois avant usage.)

Nous laissons agir sur le frottis le mélange ainsi obtenu pendant huit à dix minutes. Après lavage soigneux à l'eau courante, nous séchons la lame au papier buvard.

b) Une deuxième méthode est la *thionine* d'après la méthode

de *Graham*. Nous employons une solution de thionine saturée dans de l'alcool à 95 degrés, alcalinisée par deux gouttes de carbonate de soude à 2. p. 100, pour 10 cc. Nous laissons agir le colorant pendant une quinzaine de minutes, en évitant la dessiccation, puis lavage à l'eau et séchage au papier buvard.

c) Un troisième procédé de contre-coloration est le Giemsa lent.

A un bain de 50 cc. d'eau distillée neutre ou légèrement alcaline; obtenue (sous contrôle de la réaction au rouge neutre à 1/100) soit par addition de quelques gouttes de carbonate de lithine à 1/1000, soit par ébullition pendant vingt minutes au contact de perles de verre, nous ajoutons cinquante gouttes de Giemsa, soit une goutte de colorant par centimètre cube.

Dans ce bain ainsi préparé, nous laissons pendant vingt-quatre heures la lame traitée par la benzidine oxygénée, lavée à l'alcool à 75 degrés et bien sèche.

A l'examen microscopique, nous voyons, dans les bonnes colorations, les hématies teintées en gris fer et les noyaux des globules blancs colorés en violet plus ou moins foncé suivant la catégorie à laquelle ils appartiennent :

Violet intense pour les lymphocytes;

Violet plus clair pour les monocytes;

Les polynucléés présentant un violet noir qui permet de les différencier nettement des monocytes.

Le cytoplasme, chez les globules blancs présentant la réaction à la benzidine, est coloré en vert brunâtre, avec, se détachant, les granulations brunes des peroxydases.

C'est une bonne contre-coloration, à condition d'avoir de l'eau distillée rigoureusement neutre ou légèrement alcaline. Elle n'a que le seul inconvénient de demander vingt-quatre heures, ou tout au moins douze heures. Il faut, de plus, bien sécher la lame retirée de son bain d'alcool, sous peine de voir le Giemsa se précipiter : les noyaux des leucocytes ne sont pas teints et ne peuvent ainsi que très difficilement se

différencier, si le colorant précipité ne donne pas de fausses teintes qui induisent l'observateur en erreur.

Nous devons dire dès maintenant que nous préférons la contre-coloration à l'hématoxyline, car elle est plus rapide que le Giemsa et, si elle donne des colorations nucléaires moins agréables à l'œil que celles obtenues par la thionine, elle permet mieux que cette dernière de différencier à coup sûr les leucocytes.

II. — *Oxydases.*

Nous employons la technique décrite par N. Fiessenger et Roudowska, qui modifièrent une technique de W. Schultze.

A. — Les frottis desséchés (il importe peu qu'ils soient frais) sont fixés deux minutes par le mélange :

Alcool à 95°	90 cc.
Formol à 40 p. 100	10 cc.

puis soigneusement lavés et séchés au papier buvard.

B. — Nous faisons agir, pendant dix minutes, le mélange extemporané, à parties égales, des deux solutions préparées au moins depuis dix jours :

Solution A :

Naphtol A	0 g. 50
Alcool absolu	15 g.
Ammoniaque concentré	1 goutte
Eau distillée	50 cc

(Pour que le naphtol A ne précipite pas, il est important de le faire dissoudre complètement dans le mélange alcool absolu ammoniaque avant d'ajouter l'eau distillée.)

Solution B :

Paraphénylène diamine	0 g. 50
Eau distillée	50 cc.

(Bien filtrer les solutions avant leur emploi.)

C. — Puis nous lavons à l'eau courante jusqu'à ce que les aiguilles déposées sur le frottis par le mélange précédent aient entièrement disparu, soit pendant deux à trois minutes.

D. — Pour mettre en évidence les noyaux des globules blancs, nous faisons agir une contre-coloration élective :

Soit le Giemsa, dont nous employons la solution suivante :

Giemsa	III gouttes
Eau distillée neutre.....	2 cc.

que nous laissons en contact avec la préparation, après l'avoir soigneusement *séchée*, pendant une trentaine de minutes, puis lavage à l'eau courante et séchage par agitation.

Il importe d'employer de l'eau distillée neutre, car, pour peu que son pH soit abaissé, le Giemsa, comme on sait, colore mal les noyaux et ne permet pas la différenciation des leucocytes. L'ébullition de l'eau distillée avec des perles de verre suffit souvent pour la neutraliser.

OXYDASES ET PEROXYDASES DES MONOCYTES

I. — *Peroxydases.*

Lorsque nous examinons au microscope, à l'objectif à immersion, les frottis ainsi colorés, un sang normal montre les réactions suivantes :

Les peroxydases apparaissent sous la forme de granulations nettement différenciables, colorées en brun ou en jaune brun. Il semble que la benzidine forme un dépôt sur la périphérie de ces granulations et ne les colore pas dans la totalité, car, dans celles qui sont un peu volumineuses, la coloration est beaucoup plus marquée sur le pourtour qu'au centre, qui paraît clair. Cet aspect est surtout net dans les leucocytes éosinophiles, où les granulations sont plus volumineuses.

Les globules blancs seuls montrent la réaction à la benzidine, tandis que les hématies sont indifférentes.

La contre-coloration nucléaire, en particulier l'hématoxyline ferrique, permet, sans se tromper, de différencier les leucocytes entre eux :

Les lymphocytes présentent un noyau violet noir foncé et un protoplasma légèrement violet, mais il n'y a, à quelque grossissement que ce soit, aucune réaction peroxydasique.

Les polynucléaires neutrophiles et éosinophiles, dont le noyau lobé présente un fin reticulum très serré noir et violet foncé, ont, même dans les polynucléaires à deux lobes, une réaction à la benzidine très marquée. Le protoplasma est entièrement rempli de granulations, qui quelquefois recouvrent le noyau. Dans les neutrophiles, les grains sont très fins, tandis

que dans les éosinophiles ces grains, beaucoup plus volumineux, peuvent être assez facilement comptés, et leur nombre varie de 60 à 90.

Les monocytes ont le noyau plus grand teinté par l'hématoxyline ferrique en violet noir moins foncé que celui des polynucléaires; leur reticulum nucléaire est plus lâche, ce qui permet facilement de distinguer un monocyte à noyau lobé d'un polynucléaire à deux noyaux. Leur protoplasma ne présente pas d'une façon uniforme la réaction à la benzidine. Dans les monocytes à noyau rond ou ovale, les granulations peroxydasiques sont inconstantes, mais dans les monocytes à noyau réniforme ou lobé nous avons toujours, dans le sang normal, rencontré ces granulations, dont la densité n'a rien de comparable avec celle des polynucléaires. En effet, ces grains, assez fins, au nombre d'une vingtaine environ, sont disposés, soit dans l'encoche du noyau, soit en couronne à la périphérie du monocyte. D'autres fois encore ils sont répartis sans ordre sur l'étendue du cytoplasme et quelques-uns même sont facilement décelables sur le noyau.

Les mastocytes sont assez facilement reconnaissables à leur noyau ressemblant à ceux de polynucléaires neutro ou éosinophiles, avec un reticulum nucléaire moins serré, qui laisse entre ses mailles des plages claires plus étendues que chez les leucocytes à granulations α . Mais ils ne présentent aucune réaction peroxydasique. Dans tous nos examens, nous n'avons pas vu de mastocytes possédant de granulations.

Les granulations peroxydasiques sont très résistantes. Une fois révélées, le temps ne diminue pas l'intensité de leur teinte; l'alcool, le xylol, l'huile de cèdre, le baume, sont sans action sur elles. Plusieurs mois après leur coloration, des frot-tis secs ou recouverts d'huile de cèdre montraient les granulations peroxydasiques aussi nettes et franches que si nous venions de les obtenir.

Pour obtenir une bonne coloration, il n'est pas nécessaire que la benzidine oxygénée soit fraîche. Il faut que la solution soit bien filtrée (car la benzidine n'est jamais très pure et

laisse un léger dépôt) et que l'eau oxygénée soit ajoutée depuis au moins vingt-quatre heures. Nous avons pu très facilement et très nettement colorer des frottis avec une solution de benzidine datant d'au moins soixante jours. De plus, le frottis doit être récent, datant de dix jours au maximum, sinon la coloration donne très mal; on trouve des vides assez grands dans les polynucléaires et les éosinophiles, comme si une partie des ferments peroxydasiques avaient disparu; dans les monocytes ils ne sont plus décelables; de plus, les noyaux se colorent très mal, sont trop pâles ou trop foncés. On sait que le phosphate de soude monosodique permet d'éclaircir la coloration trop intense des vieux frottis traités par le May-Grünwald-Giemsa. Nous n'avons pas trouvé l'équivalent pour les vieux frottis, où se décèlent mal les peroxydases.

II. — *Oxydases.*

A l'examen microscopique, les oxydases se présentent sous forme de fines granulations bleues provenant d'un précipité d'indophénol au contact de l'air.

La contre-coloration nucléaire au Giemsa n'altère en rien la teinte de ce précipité. Seuls les leucocytes présentent des oxydases; les globules rouges n'en ont pas.

Analysons séparément les réactions des différents globules blancs :

Les lymphocytes sont colorés de la même façon que par un Giemsa simple. Il semble qu'ils ne possèdent pas la réaction à l'indophénol.

Les polynucléaires à granulations α et les éosinophiles sont facilement reconnaissables quant à leurs noyaux, qui présentent les teintes pourpres du Giemsa, mais leur protoplasma est violet mauve, avec, par places et en paquets, un piqueté bleu foncé caractéristique du précipité bleu d'indophénol déterminé par la présence d'oxydases.

Les monocytes, eux aussi, ont leur noyau coloré de la même

façon que par un Giemsa, mais la teinte du protoplasma varie avec la forme des noyaux. Quand celui-ci est rond ou ovale, rien de caractéristique; s'il est lobé, le protoplasma prend la teinte violet mauve rencontrée chez les polynucléaires, avec quelquefois présence du piqueté bleu d'indophénol. Lorsque les monocytes sont à noyau seulement réniforme ou légèrement échancré, le protoplasma est teinté sans granulations oxydasiques. Il semblerait donc, si les monocytes à noyau rond sont jeunes et ceux à noyau lobé plus âgés, que les formes évoluées (grandes formes monocytaires) sont surtout chargées en oxydases granuleuses.

Les mastocytes paraissent également dépourvus de réactions oxydasiques, car on n'y trouve que les granulations basophiles habituelles.

Pour obtenir des colorations nettes et propres, il importe que les colorants soient bien filtrés, que les lames baignent dans l'alcool à 75 degrés, pour être débarrassées d'un léger précipité qui se forme au contact de l'air à la surface du mélange naphthol A-paraphénylène diamine étendu sur la préparation, précipité qui s'enlève très imparfaitement au lavage à l'eau courante; en moyenne cinq minutes de séjour dans l'alcool suffisent pour enlever ce précipité géant. Il importe aussi, au sortir de l'alcool, de sécher soigneusement la lame, car le Giemsa, contre-colorant, précipiterait et ne colorerait plus les globules blancs.

Les frottis peuvent être vieux, mais leur existence ne doit pas dépasser un mois et demi à deux mois; au delà de cette limite, les colorations sont mauvaises et les frottis non lisibles.

Le précipité bleu d'indophénol résiste, mais moins bien que les peroxydases, aux différents agents tels que temps, alcool, huile de cèdre, car à la longue leur intensité de coloration s'affaiblit légèrement.

OBSERVATIONS

Nous avons appliqué ces méthodes de coloration des peroxydases et des oxydases aux frottis de sang prélevés à des paludéens. Ces frottis furent exécutés, autant que nous avons pu le faire, au moment de l'accès, aussitôt après l'accès et assez longtemps ensuite, c'est-à-dire une dizaine de jours en moyenne. Si le malade a eu plusieurs accès, nous nous sommes efforcé de répéter l'opération chaque fois.

Voici les résultats obtenus :

OBSERVATION I.

Y..., matelot, âgé de 18 ans, entre à l'hôpital, dans le service de clinique des maladies exotiques (Professeur Bonnin), le 11 octobre 1931. Il arrive de la côte d'Afrique. Son premier accès date du 10 octobre 1931. A l'entrée la recherche des hématozoaires décèle de nombreux *Plasmodium falciparum*.

Le 12 octobre 1931, le malade étant en accès (38°5), nous faisons un premier prélèvement, qui donne :

Monocytes, 14 p. 100;

Monocytes lobés, 5 p. 100;

au total, 19 p. 100.

Au point de vue :

a) *Peroxydases* : aucun changement notable dans les monocytes qui présentent leur aspect normal;

b) *Oxydases* : présence de quelques granulations dans les monocytes et plus principalement dans ceux qui ont un noyau lobé, c'est-à-dire réaction ordinaire.

Deux heures après, lorsque la maxima est atteinte (40°5), nouveaux prélèvements donnant :

Monocytes, 19 p. 100;
Monocytes lobés, 4 p. 100;
au total, 23 p. 100;

on voit :

que les granulations *peroxydasiques* ne semblent pas avoir augmenté au point de vue nombre, mais au point de vue diamètre;

que la réaction *oxydasique* existe dans presque tous les monocytes.

Le lendemain, 13 octobre 1931, l'accès étant terminé depuis vingt-quatre heures, nous faisons de nouveaux examens; il y a :

Monocytes, 18 p. 100;
Monocytes lobés, 8 p. 100;
au total, 26 p. 100;

on constate :

a) Une augmentation très nette du nombre et du volume des granulations *peroxydasiques*. Tous les monocytes en possèdent, et ceux qui ont un noyau lobé ressemblent par la densité et l'intensité de la réaction à des polynucléaires à deux noyaux; mais l'hématoxyline ferrique permet, par la coloration nucléaire, de faire la différence entre ces deux sortes de globules blancs;

b) Dans tous les monocytes une réaction *oxydasique* sous forme :

soit d'un piqueté bleu très fin et abondant;
soit d'une nappe protoplasmique bleue très visible.

Le prélèvement suivant date du 30 octobre 1931. Le dernier accès paludéen, moins intense, est du 14 octobre 1931. Le malade a été soigné du 12 au 26 octobre 1931 par la prise journalière de 1 g. 50 de quinine. A cette date :

a) La réaction monocyttaire est faible (12 p. 100), les monocytes ont une réaction *peroxydasique* beaucoup moins intense que dans les frottis précédents, quoique plus forte que la normale;

b) Les monocytes ont une réaction *oxydasique* presque aussi marquée que celle vue dans les frottis exécutés le 13 octobre 1931, c'est-à-dire vingt-quatre heures après un accès.

OBSERVATION II.

P..., 40 ans, chauffeur à bord du S. S. *Saint-Palais*, venant de la côte occidentale d'Afrique, entre le 15 octobre 1931 à la Clinique maritime et coloniale (Professeur Le Dantec).

Son premier accès date du 25 septembre 1931. Le malade en aurait eu un le 14, veille du jour où nous le voyons pour la première fois. P... n'a pas pris de quinine à bord, pendant le trajet de Kaolack à Bordeaux.

Le 15, il est fiévreux et l'examen du sang montre du *Plasmodium falciparum* et 31 p. 100 de monocytes.

La recherche des *peroxydases* montre des granulations peu abondantes et peu colorées.

Les *oxydases* existent seulement dans les monocytes grands et à grands noyaux.

Le malade est soigné par des injections intramusculaires d'un sel de quinine. Le 17 octobre 1931, il a un accès à 40 degrés, mais nous ne pouvons faire des frottis que le 19. Ce jour-là, 24 p. 100 de monocytes.

Les *peroxydases* ne semblent pas avoir augmenté de nombre, mais de volume.

Les *oxydases* existent dans tous les monocytes et sont principalement abondantes dans les monocytes à noyaux lobés.

OBSERVATION III.

G..., 43 ans, chauffeur du S. S. *Saint-Palais*, entre le 15 octobre 1931 à la Clinique maritime et coloniale. Son premier accès date du 5 octobre 1931 et la fièvre aurait atteint 38°8. Le 14 octobre 1931, nouvel accès, le malade prend 0 g. 25 de quinine. Le jour où nous le voyons, G... est frissonnant, et la recherche des hématozoaires montre du *Plasmodium falciparum*.

Après coloration, les *peroxydases* sont sous forme de granulations espacées et peu nombreuses dans la plupart des monocytes à noyaux ronds ou ovales, et en plus grande abondance dans les monocytes à noyaux lobés.

Les *oxydases* existent dans environ 75 p. 100 des monocytes.

Le 16 octobre 1931, le malade a un accès à 38°5, et le 19, l'examen du sang donne 35 p. 100 de monocytes. Les granulations *peroxydasiques* sont augmentées de nombre et surtout de diamètre, dans les grands monocytes principalement. Dans les autres, la teinte des grains est un peu plus intense que normalement. Les réactions *oxydasiques* sont très abondantes dans les monocytes à noyaux lobés; dans les autres, une teinte bleutée dénotant la présence d'oxydases.

OBSERVATION IV.

V..., 29 ans, du S. S. *Saint-Palais*, entre à la Clinique maritime et coloniale le 15 octobre 1931. Son premier accès remonte au 12 octobre 1931, quoique le malade ait pris préventivement tous les jours un comprimé de quinine. Le 15, présence de *Plasmodium vivax* (26 p. 100 de monocytes).

Les granulations *oxydasiques* sont un peu plus denses que normalement, de même pour les *peroxydases*.

Le 19 octobre 1931, nouveau prélèvement. Dans les trois jours qui ont précédé, le malade a eu de petits accès et reçoit journellement 0 g. 75 de quinine en injections intramusculaires pendant quatre jours. Dans les monocytes (28 p. 100) à noyaux lobés, les granulations *peroxydasiques* sont augmentées de diamètre et plus colorées; les réactions *oxydasiques*, très nettes, sont disposées en paquets, et principalement dans les monocytes lobés.

OBSERVATION V.

J..., 38 ans, du S. S. *Saint-Palais*, entre à l'hôpital dans le service des maladies exotiques (Professeur Bonnin), le 15 octobre 1931. Le premier accès date d'une dizaine de jours, et jusqu'au 14, accès quotidien parfois jusqu'à 39°6. La présence de *Plasmodium falciparum* est confirmée.

Le 16, 42 p. 100 de monocytes, dont 13 p. 100 de lobés, grande abondance de granulations *peroxydasiques* très nettes dans les grands monocytes.

Pour les autres, la distribution est irrégulière allant de l'absence complète de réactions à la densité de celle des monos lobés.

Le protoplasma a une teinte bleue un peu plus intense que la normale avec quelques piquetés nets d'indophénol. Le malade ne reçoit pas de quinine.

Le 20, J... a un accès à 38°8. Le lendemain nous faisons des frottis montrant 37 p. 100 de monocytes; tous contiennent des granulations *peroxydasiques* et une nette augmentation des granulations *oxydasiques*.

Le 22, le malade a un nouvel accès : 31 p. 100 de monocytes, augmentation du nombre et du volume des granulations *peroxydasiques*. Pour les *oxydases*, tous les monocytes possèdent à un degré plus ou moins abondant le fin piqueté bleu révélateur du précipité d'indophénol.

Un traitement quinquique est institué à partir du 23 octobre 1931. Le malade, qui n'a plus d'accès depuis le 23 octobre 1931, a dans son sang, le 11 novembre 1931 : 24 p. 100 de monocytes. Diminution des granulations *peroxydasiques*. Seuls les monos à noyaux lobés et les grands monos en possèdent et seulement 10 p. 100 des autres. Augmentation en nombre des réactions *oxydasiques* sur les deux frottis précédents.

OBSERVATION VI.

E..., 37 ans, est traité dans le service de M. le Professeur Bonnin par la malariathérapie. L'inoculation par *Plasmodium vivax* date du 11 octobre 1931. Le malade est en accès le 21. C'est le cinquième depuis son infestation.

L'examen de son sang en pleine période fébrile donne 32 p. 100 de monocytes :

Pour les *peroxydases* : présence de granulations un peu plus nombreuses que normalement dans les grands monocytes et monocytes à noyaux lobés;

Pour les *oxydases* : les réactions sont identiques à celles d'un homme bien portant.

Le même jour, mais l'accès terminé, nouveaux frottis qui donnent 42 p. 100 de monocytes :

Une augmentation nette des granulations peroxydasiques dans les monocytes, qui dans le frottis précédent en possédaient mais en petit nombre, et dans les autres présence incontestable, ce qui correspond à une *augmentation générale des granulations peroxydasiques* des monocytes;

Egalement pour les *oxydases*, présence du piqueté bleu d'indophénol très perceptible dans la plupart des monocytes, et pour les autres le protoplasma revêt une teinte bleue très foncée, plus intense que dans un frottis coloré par un May-Grünwald-Giemsa ordinaire.

Le 22 octobre, le malade a un nouvel accès. Des frottis, exécutés pendant la période fébrile (28 p. 100 de monocytes), ne montrent aucune augmentation notable, sur le frottis précédent, des granulations *oxydasiques* et *peroxydasiques*.

Le 30, E... fait son septième accès. Les frottis faits après l'accès montrent : 28 p. 100 de monocytes, une légère diminution du nombre des granulations *peroxydasiques* sur l'examen précédent, puisque certains monocytes à noyau rond ne présentent pas la réaction. Par contre, la réaction *oxydasique* semble ne pas avoir bougé, car le frottis paraît identique à celui exécuté le 22 octobre.

Le 4 novembre 1931, sept heures après le maximum du neuvième accès, les frottis donnent : 30 p. 100 de monocytes. Tous présentent des granulations *peroxydasiques* et quelques-uns à noyaux lobés ressemblent par la densité de la réaction à des polynucéaires à deux noyaux. Les *oxydases* semblent un peu moins abondantes pour les monocytes que dans le frottis précédent.

Le malade fait son dernier accès le 8 novembre 1931, les étalements de sang montrent : 19 p. 100 de monocytes avec une réaction *oxydasique* et *peroxydasique* nettement diminuée sur les résultats précédents, mais un peu plus marquée que normalement.

Autres observations.

Dix, qui peuvent se diviser en : quatre ayant eu des accès depuis plus de six mois; six, depuis moins de six mois.

a) Les premières avaient une monocytose normale, voisine de 12 p. 100; les réactions des ferments leucocytaires étaient identiques à la normale.

b) Les autres, ayant de 15 à 20 p. 100 de monocytes, avaient des grains peroxydasiques bruns dans les monocytes grands à noyau lobé et dans quelques-uns à noyau rond ou ovale; quant aux oxydases, une nappe cytoplasmique bleu foncé était dans les deux tiers des monocytes.

*
**

En résumé, l'action immédiate des ferments leucocytaires n'est guère connue, pour aucune des variétés de leucocytes en ayant : activation de la fonction phagocytaire, dit Portier, il est plus vraisemblable que ces ferments ont une action diastasique, digestive, oxydante, etc. Cette action ne se témoigne sans doute pas seulement dans les cellules, mais les produits de sécrétion passent probablement dans le sang et les humeurs dont ils contribuent à entretenir les variations.

Il est difficile pour le moment de donner une spécificité aux ferments leucocytaires : apparemment, polynucléaires et monocytes ont les mêmes ferments. C'est par la qualité des cellules (monocytes pour les maladies à protozoaires, le paludisme en particulier) que l'organisme répond aux infections plus, semble-t-il, que par la nature des ferments. Ceux-ci, dans l'état actuel de nos connaissances, du moins, n'ont rien de spécifique. S'agit-il de détruire les corps étrangers phagocytés par les globules blancs (l'hémozoiné se rencontre au cours des accès palustres dans les monocytes) ou de neutraliser les toxines ou les déchets émanant de plasmodies?

On ne peut pas donner un rôle précis aux oxydases et aux peroxydases, mais on peut penser que la deuxième interprétation est la plus vraisemblable.

GRANULATIONS AZUROPHILES ET PEROXYDASES

Nous avons recherché les rapports entre les granulations azurophiles et les peroxydases en employant comme contre-colorant le Giemsa lent, suivant la méthode décrite au paragraphe des techniques de colorations, pour colorer les uns et les autres.

Les granulations azurophiles ne paraissent avoir aucun rapport avec les granulations protoplasmiques propres aux leucocytes granuleux, qui supportent sinon constituent les ferments. Dans le paludisme, les granulations azurophiles des monocytes, comme les peroxydases, sont augmentées en nombre et en volume.

Les recherches ont porté sur deux éléments du même sang :

L'un, fixé pendant deux minutes par le mélange alcool-éther en parties égales, servira de témoin;

L'autre a été préalablement traité par la benzidine oxygénée.

L'un et l'autre sont colorés par Giemsa lent (vingt-quatre heures).

Les frottis témoins ressemblent à un frottis quelconque coloré par un Giemsa ordinaire : les granulations azurophiles et les granulations α et ϵ se détachent sur le fond bleuté du protoplasma. Sur la lame colorée par la benzidine oxygénée, les granulations azurophiles sont en partie masquées par la teinte verdâtre ou brun verdâtre des réactions peroxydasiques, mais sont visibles, car elles se détachent en rouge pourpre. Cette observation, pourtant, ne peut guère être obtenue avec un microscope ordinaire; il faut un microscope

puissant, possédant un grand pouvoir définissant. Nous pouvons donc dire que les granulations azurophiles sont distinctes des peroxydases et ne leur servent pas de support, comme cela est pour les granulations α et ϵ des polynucléaires.

Dans les cas où les monocytes lobés présentent une réaction à la benzidine oxygénée si intense que sans la contre-coloration ils risqueraient d'être confondus avec les polynucléaires à deux noyaux, il y a aussi une augmentation des granulations azurophiles, mais ces dernières sont poussées.

(Ces granulations azurophiles fines ou grosses se trouvent toujours dans une partie protoplasmique, qu'on pourrait assimiler à des pseudopodes. Cette partie est presque incolore; la faible basophilie n'existe que dans le reste du protoplasma. Dans les rares monocytes mélanifères que nous avons rencontrés, les granulations azurophiles étaient peu nombreuses et fines, les granulations oxydasiques et peroxydasiques identiques à celles des monocytes non mélanifères.)

Il semble y avoir simultanément entre l'augmentation des granulations azurophiles et celle des grains peroxydasiques, sans plus de rapports entre elles.

CONCLUSIONS

Les oxydases et les peroxydases existent normalement, non seulement dans les granulocytes, mais aussi dans les monocytes à noyaux lobés.

Pour pouvoir affirmer leur existence, il faut, après révélation des ferments, des contre-colorations nucléo-cytoplasmiques, selon les procédés indiqués dans cette thèse.

Au cours du paludisme, ces ferments leucocytaires se rencontrent en plus grande quantité dans les monocytes à noyaux lobés, et apparaissent dans les autres formes à noyau rond ou ovale, où ils n'existaient pas auparavant.

Cette augmentation ne se produit pas pendant l'accès lui-même, mais aussitôt après et dure en moyenne vingt-quatre heures. Si un autre accès se produit après cette période, les peroxydases et les oxydases subissent une nouvelle augmentation, jusqu'à un certain nombre d'accès, à la suite desquels cette augmentation paraît très peu sensible.

Quand les accès ne se produisent plus, les ferments diminuent avec rapidité, pour tendre vers un taux un peu plus élevé que la normale, qui n'est atteinte qu'après un temps assez long.

Vu : *Le Doyen,*
C. SIGALAS.

VU, BON A IMPRIMER :

Le Président,

H. BONNIN.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :
Bordeaux, le 8 mars 1932.

Le Recteur de l'Académie,
F. DUMAS.

BIBLIOGRAPHIE

- ABELOUS et ALOY. — Oxydase et oxhydridase. Oxydation et hydrolyse. *C. R. Soc. de biol.*, Paris, 1921, t. II, p. 331-333.
- ARZELA. — Comportamento delle perossidasi leucocitarie in alcune contingenze fisiologiche et patologiche. *Pathologica Genova*, 1926, XVIII, p. 26-28.
- BETANCES. — Les colorations intravitales et les réactions de l'oxydase. *C. R. hebdomadaire Soc. de biol.*, 21 mai 1921, t. LXXXIV, n° 18, p. 906.
- BUCHNER. — Phenolphthalol. Its preparation and reaction toward oxidases and peroxidases. *Amer. Journ. physiol.*, Baltimore, 1925, XXIV, p. 354-358.
- FIESSINGER (N.). — Les ferments des leucocytes en physiologie, pathologie et thérapeutique générale. Masson et C^{ie}, Paris, 1923.
- Les ferments leucocytaires. *Strasbourg médical*, 5 oct. 1926, p. 28-31.
- FIESSINGER (N.) et JAMIN. — Au sujet des granulations dites oxydiques mises en évidence avec la benzidine oxygénée dans les leucocytes de la série granuleuse. *C. R. Soc. de biol.*, Paris, 1924, p. 668-670.
- FIESSINGER (N.) et ROUDOWSKA. — Les réactions microchimiques des oxydases dans les tissus humains. *Journ. de méd. expér.*, Paris, 1913, p. 586.
- GRAHAM (G.-S.). — The oxidizing ferments of the myelocytes series of cells and its demonstration by an alphanaphthol-pyrronin method. *The Journ. of med. research*, t. XXXV, n° 2, nov. 1916, p. 231-242.
- HOLLANDE. — La coloration par l'oxybenzidine des granulations des

- leucocytes du sang de l'homme. *C. R. Soc. de biol.*, Paris, 1924, p. 1203-1205.
- JOLLY (J.). — Traité technique d'hématologie. A. Maloine et ses fils, Paris, 1923.
- KELLER. — Der Einfluss des Ultravioletten Lichts auf die Oxydationsreaktion der Leucocyte im Gewebe. *Arch. für Dermat. und Syph.*, Berlin, 1924, p. 180-182.
- LEMAY et GUILBERT. — Influence des rayons X sur les oxydases leucocytaires. *C. R. Acad. des sciences*, Paris, 1924, p. 1711-1713.
- MARINESCO. — La valeur des réactions histologiques des ferments oxydants (granulations d'oxydases, accélérateur d'oxydations de Graëff, granulations d'indophénol de Hollande. *Bulletin d'histologie appliquée à la physiologie*, Lyon, 1925, p. 239-261.
- MENTEN (Maud L.). — A study of the oxidase reaction with A-naphol and paraphenyldiamine. *The Journ. of med. Research*, t. XL, n° 3, sept. 1919, p. 433-437.
- MIELKE (HEDWIG). — Untersuchung über die oxyldativen Fermente der Leukocyten. *Klin. Wochenschr.*, Berlin, 1925, p. 2201.
- POPPER. — Contribution à l'étude des ferments oxydants dans les leucocytes. *C. R. Soc. de biol.*, réunion roumaine, 10 févr. 1923, t. LXXXVII, n° 20, p. 41.
- PRENANT. — Les peroxydases animales sont-elles diffuses ou figurées? *C. R. Soc. de biol.*, Paris, 1925, p. 1499.
- RIGHI. — Contributo allo studio delle oxidasi. *Riv. di clin. pediat. Firenze*, 1923, p. 192-216.
- SABRAZÈS. — Peroxydases des éosinophiles; peroxydases du pus gonococcique et des urines de pyélonéphrite colibacillaire au début; eczéma chronique et peroxydases leucocytaires simplifiées. *Gaz. hebd. des sc. méd. de Bordeaux*, 1922,
- La question des oxydases et peroxydases du sang, des tissus, des organes. *Gaz. hebd. des sc. méd. de Bordeaux*, 1922, p. 385-389.
- Peroxydase leucocytaire et roëntgenthérapie; peroxydase des monocytes à noyaux multilobés; technique peroxydasiques

simplifiées. *Gaz. hebd. des sc. méd. de Bordeaux*, 1922, p. 331.

- Recherche de la réaction peroxydasique dans les diverses cellules. Considération thérapeutique. Quelques particularités histologiques chez le rat blanc. *Gaz. hebd. des sc. méd.*, 1922, p. 380.

SERENI. — Recherche sur les oxydases : 1° Sur la formation des cristaux d'indophénol en présence des divers colloïdes; — 2° La reazione delle ossidasi neipreparati sopravvienti. *Arch. di fisiol. Firenze*, 1924, p. 179-183, 185-189.

